

LIPOSOMY, JEJICH CHARAKTERIZACE, PŘÍPRAVA A INKORPORACE DO NANOVLÁKENNÝCH NOSIČŮ

LIPOSOMES—THEIR CHARACTERIZATION, PREPARATION AND EMBEDDING INTO NANOFIBERS

K. Vocetková^{1,2}, A. Míčková^{1,3}, T. Jarošíková⁴, J. Rosina⁴, M. Handl⁴, E. Amler^{1,2}

¹Ústav biofyziky, 2. lékařská fakulta, UK v Praze, Česká republika

²Ústav experimentální medicíny, AV ČR v.v.i., Praha, Česká republika

³Univerzitní centrum energeticky efektivních budov, ČVUT v Praze, Česká republika

⁴Fakulta biomedicínského inženýrství, ČVUT v Praze, Kladno, Česká republika

Souhrn

Liposomy jsou uzavřené vezikuly tvořené lipidovými dvojvrstvami, které jsou díky svým jedinečným vlastnostem vhodnými nosiči pro řízené dodávání bioaktivních látek. Práce přináší ucelený literární přehled o liposomech, jejich vlastnostech a charakterizaci. V závěru článku je uvedena možnost inkorporace liposomů do nanovláknenných nosičů. Lze předpokládat, že takto funkcionalizovaná nanovláknna najdou široké uplatnění v rámci regenerativní medicíny.

Klíčová slova

liposomy, řízené dodávání léčiv, nanovláknna

Abstract

Liposomes are sealed vesicles composed of lipid bilayers, suitable for drug delivery. Main purpose of this paper is a review on liposomes, their properties, characterization and preparation. In addition, a possibility of embedding liposomes into nanofibers is discussed. This drug delivery system has a promising potential for future applications in the field of regenerative medicine.

Keywords

liposome, controlled drug delivery, nanofibers

Úvod

Unikátní vlastnosti liposomů je přímo předurčují k využití v cílené terapii. Již na přelomu 19. a 20. století německý vědec Paul Ehrlich ve své práci „Zázračná střela“ popsal léčivé látky, které se soustředí pouze na buňky zasažené patogenními mikroorganismy a zdravé tkáně zanechávají in-

taktní. Tento koncept se postupem času a s vývojem nových léčiv rozšířil i do dalších oborů, hlavně do protinádorové terapie[1]. Jednou z největších výzev dneška v tomto odvětví je zvýšení terapeutického indexu – maximalizování léčebného účinku a zároveň minimalizování účinků vedlejších, nežádoucích. Toxické látky lze enkapsulovat do speciálních nosičů. Využívají se micely, liposomy,

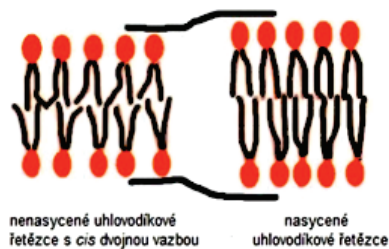
dendrimery, tekuté krystaly i nanočástice. Oproti jiným mají liposomy tu výhodu, že jejich farmakokinetika, biodistribuce a metabolismus jsou již relativně známé a prozkoumané[2]. Byly poprvé popsány v 60. letech minulého století Alecem Banghamem, hematologem na univerzitě v Cambridge[3]. Přes prvotní rozpaky doprovázející jejich možné aplikace v medicíně, způsobené především jejich nedokonalou přípravou v 80. letech 20. století, našly liposomy své uplatnění a v dnešních letech je o ně stále větší zájem.

Liposomy jsou sférické, umělé vezikuly skládající se z jedné či více koncentrických lamel tvořených dvouvrstvou amfipatických lipidů. Lze do nich inkorporovat látky s různými fyzikálně-chemickými vlastnostmi. Od jejich objevení a první přípravy v šedesátých letech minulého století našly liposomy mnohá uplatnění, od teoretického studia chování fosfolipidové dvouvrstvy biologické membrány po klinické aplikace v protinádorové terapii [3].

Fyzikálně-chemické vlastnosti liposomů

Fyzikálně-chemické vlastnosti liposomů ovlivňuje složení lipidů, pH, teplota, ale také jejich velikost, lamelarita nebo technologie přípravy [4]. Tyto faktory společně určují jejich stabilitu a chování v organismu.

Uspořádanost lipidové struktury je funkcí teploty a hydratace. Závisí na délce acylového řetězce mastné kyseliny, stupni saturace uhlovodíkových řetězců a na van der Waalsových interakcích mezi nimi [5]. Změna rigidní struktury na fluidní je daná teplotou fázového přechodu T_m . Teplota fázového přechodu je tím nižší, čím kratší jsou uhlovodíkové řetězce mastných kyselin a čím více dvojných vazeb obsahují. Dlouhé řetězce tvoří rigidnější struktury, ale se vzestupem teploty rotují některé C-C vazby a struktura se stává pohyblivější.



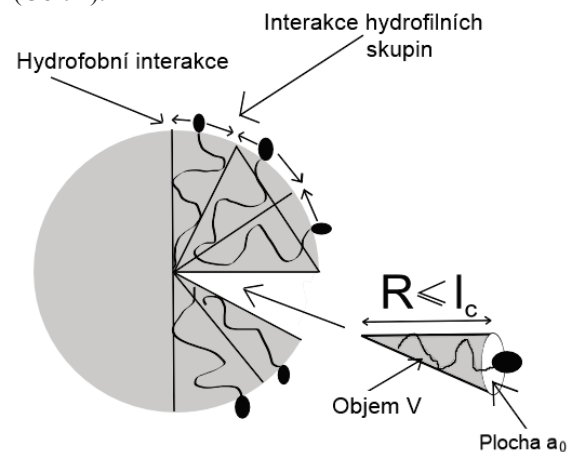
Obr. 1: Vliv cis vazby na strukturu lipidové dvouvrstvy (převzato a upraveno z [6]).

Nenasycené mastné kyseliny se díky své cis-konfiguraci k sobě nemohou přiblížit na takovou vzdálenost jako nasycené mastné kyseliny a molekuly lipidů tak mají větší volný objem[6]. (Obr. 1).

Hnací silou spontánní agregace amfipatických molekul jsou především hydrofobní interakce, parametry amfipatické molekuly určují typ vznikajícího agregátu. Jsou určeny poměrem velikosti a tvaru hydrofilní a hydrofobní části molekuly. Jeho kvantitativní vyjádření je zahrnuto ve veličině nazývané kritický „pakovací“ parametr (*critical packing parameter*) CPP [7], která je popsána vztahem (1),

$$CPP = \frac{V}{l \cdot a_0} ; \quad (1)$$

kde je symbolem V označen volný objem, který v agregátu zaujímá hydrofobní řetězec (hydrofobní řetězce) molekuly, l je efektivní délka alkylového řetězce a a_0 označuje efektivní plochu, kterou zaujímá hydrofilní část amfipatické molekuly na fázovém rozhraní agregátu a objemové fáze [3] (Obr. 2).



Obr. 2: Parametry amfipatické molekuly (převzato a upraveno z [8]).

Podle vztahu (1) lze predikovat strukturu, která vznikne z příslušného fosfolipidu či z jeho směsi (Tab. 1).

Tab. 1: Vztah mezi CPP a vzniklou strukturou [9].

Kritický „pakovací“ parametr	Vzniklá struktura	Příklad
$CPP < \frac{1}{3}$	Sférická micela	SDS (dodecylsírán sodný)
$\frac{1}{3} < CPP < \frac{1}{2}$	Cylindrická micela	Lysofosfolipidy Fosfatidylinositol
$\frac{1}{2} < CPP < 1$	Flexibilní dvouvrstva vezikula	Fosfatidylcholin
$CPP = 1$	Planární dvouvrstva	Fosfatidylcholin Sfingomyeliny

$CPP > 1$	Inverzní micela	Diacylglyceroly Fosfatidyletanolamin
-----------	-----------------	---

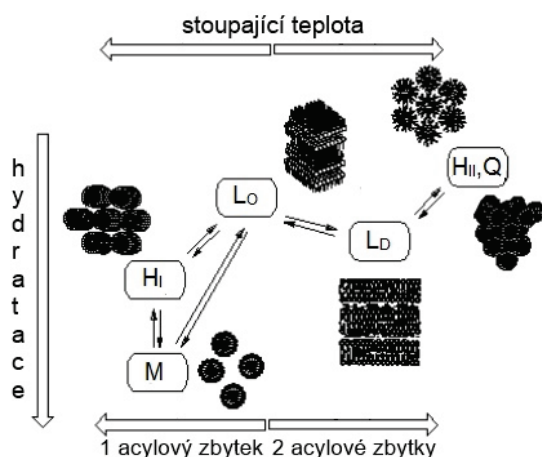
Pro formování lipidových vezikul je důležité, aby se CPP pohyboval v intervalu 0,74 – 1,00 [3].

Nejrozšířenějším lipidem membrány jsou fosfolipidy. Případná *cis* dvojná vazba v acylu mastné kyseliny způsobuje zalomení řetězce se všemi důsledky popsanými výše. Tato fosfolipidová fáze, pojmenovaná jako l_d (liquid-disordered), je charakteristická malou uspořádaností hydrofobního řetězce [10].

Sfingolipidy sestávají z nasycených mastných kyselin, jejich hydrofobní část je uspořádána těsněji a díky silnějším nevázaným interakcím je potřeba více energie k rozbití uspořádané struktury; je vyšší teplota fázového přechodu. Tato fáze je označována jako kompaktní gelová fáze s_o (solid-ordered) s omezenou fluiditou [10].

Naposlední, a svým způsobem výjimečnou, součástí lipidové dvouvrstvy jsou steroly (cholesterol). Cholesterol se vmezeřuje mezi uhlovodíkové řetězce mastných kyselin hydrofobních částí lipidů a působí jako moderátor fluidity. Napomáhá udržovat uspořádanost sfingolipidové fáze relativně fluidní, naopak neuspořádanou fosfolipidovou fázi stabilizuje. Vytváří tak cholesterolovou fázi l_o (liquid-ordered) [10].

Fosfolipidy, sfingolipidy a cholesterol vytvářejí dvouvrstevnou lamelární fázi (L). Dále existují také nelamelární (jednovrstevné) lipidové fáze – hexagonální (H) a kubická (Q). Hexagonální fáze existuje ve formě klasické (H_1) a ve formě invertované (H_2). Je představována paralelními trubičkami tvořenými micelami; podle prostředí směřují polární hlavičky dovnitř (inverzní micela) či ven ze struktury (typická micela) [11] (Obr. 3).



Obr. 3: Fázové přechody: M – micelární roztok, HI, II hexagonální fáze, LO, D lamelární fáze, Q kubická fáze [12] (upraveno podle Brown and Wolker [13], Gennis [14] and Marsh [15]).

Hexagonální fáze je velmi důležitá pro funkci liposomů jako nosičů léčiv, uvolňování do nich

enkapsulovaných látek a jejich splývání s buněčnou membránou. Právě při fázové přeměně z lamelární na hexagonální fázi dochází k destabilizaci lipidové dvouvrstvy. Fázovou přeměnu lze indukovat například změnou teploty či pH.

Stabilita liposomů

Stabilita liposomů je komplexní problematika. Má čtyři rozdílné aspekty – fyzikální stabilitu, chemickou stabilitu, koloidní stabilitu a stabilitu biologickou [16].

Fyzikální stabilita liposomů je důležitá z hlediska *in vivo* aplikací liposomů, neboť ovlivňuje jejich interakci s buňkami, složkami krve i ostatními extracelulárními strukturami. Je určena jejich morfologií, fosfolipidovým složením a především zeta potenciálem. Zeta potenciál je určen elektrostatickými interakcemi mezi částicemi. Měření zeta potenciálu dává informaci o příčinách disperze, agregace nebo flokulace [17]. V roztoku je každá částice obklopena dvěma vrstvami – vnitřní (Sternovou), ve které jsou opačně nabitě ionty vázány silně, a vnější (difusní), ve které jsou vázány slaběji. V té je pomyslná hranice, kde částice a přilehlé ionty tvoří celek, a potenciál, který zde existuje, je označován jako zeta potenciál. Platí, že pokud je větší než 30 mV nebo menší než -30 mV, jsou liposomy považovány za stabilní [18]. Na základě měření zeta potenciálu liposomů lze určit jejich velikost a tvar [19].

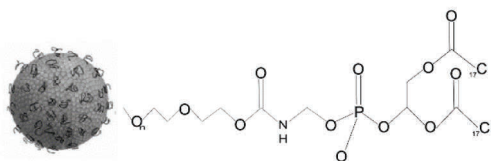
Lipidy, stejně jako většina biomolekul, podstupují degradační procesy; nejčastěji to jsou oxidace a hydrolýza [16]. Oxidace je radikálová reakce. Jsou jí vystaveny především hydrofobní řetězce (poly)nenasycených mastných kyselin z důvodu delokalizace elektronů. Nasycené mastné kyseliny mohou být oxidovány při vysokých teplotách. Cílovým místem kyslíkových radikálů jsou násobné vazby, které štěpí (popřípadě mohou tvořit cyklické peroxidy, pokud se setkají se dvěma sousedícími dvojnými vazbami). Oxidaci iniciuje například expozice světlu či stopová množství kovových iontů, která kontaminují médium [16].

Oxidaci lze částečně zabránit používáním čistých chemikálií, skladováním za nízké teploty (4°C), zabráněním styku se světlem a kyslíkem nebo přidáváním antioxidantů (EDTA) [16].

Hydrolýza je charakterizovaná štěpením molekul reakcí s vodou [17]. Předilekčným místem v molekulách fosfolipidů jsou esterové vazby. Výsledkem prvního stupně reakce je odštěpení mastných kyselin z hlavní kostry fosfolipidové molekuly, vznikají tak lysofosfolipidy. Ty jsou dále hydrolyzovány až na glycerolfosfát. Hydrolýza fosfolipidů je závislá na teplotě a na pH. Vhodným zvolením těchto parametrů se lze hydrolýze významně vyhnout [16].

Jednou z nejdůležitějších vlastností liposomů je koloidní stabilita. Promítá se do jejich praktického

využití, a proto se v minulosti mnoho prací soustředilo na možnosti sterické stabilizace koloidu[20]. Stabilita liposomové disperze je dána interakcemi mezi vezikulami. Vezikuly na sebe působí přitažlivými a odpudivými silami. Stabilita koloidu se zvyšuje, pokud rostou odpudivé síly mezi vezikulami[16]. Existují dva hlavní způsoby, jak stabilizovat koloidní disperzi. Prvním je elektrostatická stabilizace, která využívá prostého faktu, že hustota povrchové náboje vezikul je natolik velká, že převáží odpudivé elektrostatické síly nad přitažlivými van der Waalsovými. Problémem však je velká závislost na složení a podmínkách roztoku [20]. Druhým způsobem je sterická (polymerová) stabilizace, která je nejen na složení roztoku relativně nezávislá [20], ale je stejně účinná v polárním i nepolárním prostředí [21]. Principem je adsorpce polymeru (nejčastěji PEG – polyethylenglykol) na povrch liposomu. Mezi hydrofilními řetězci polymeru jednotlivých vezikul při dostatečném přiblížení působí odpudivé síly, které zabraňují shlukování[16], znemožňují adsorpci plasmatickým proteinům při *in vivo* aplikacích a snižuje pravděpodobnost rozpoznání liposomu imunitním systémem organismu[22].



Obr. 4: Stericky stabilizovaný (PEGylovaný) liposom (převzato a upraveno z [16]).

PEG (polyethylenglykol) je lineární polymer, který je biokompatibilní, rozpustný v hydrofilním i hydrofobním prostředí, netoxický a má nízkou antigenicitu [16] (Obr. 4).

Klasifikace liposomů

Liposomy lze klasifikovat do skupin na základě morfologie a povrchového náboje[9], podle cirkulace *in vivo* (na klasické a stericky stabilizované liposomy, jejichž poločas je několikanásobně delší), podle aplikace (diagnostická nebo terapeutická) či podle jejich specializace (řízené/cílené liposomy, imunoliposomy nebo DNA vektory) [23].

Morfologicky lze liposomy dělit podle počtu lamel na unilamelární a multilamelární, které se dále dělí podle velikosti na několik podskupin[24] (Tab. 2).

Malé unilamelární vezikuly jsou díky své velikosti výbornými nosiči pro léky, protože dobře pronikají do extravaskulárních prostorů. Větší zakřivení způsobuje větší membránové napětí a tedy menší fyzikálně-chemickou stabilitu. Multilame-

ární liposomy jsou díky svému vysokému obsahu lipidů ideálními nosiči lipofilních látek [25].

Dále lze liposomy klasifikovat dle náboje. Celkový náboj je určen charakterem polárních částí lipidových molekul a ovlivňuje jejich stabilitu (brání agregaci a změně velikosti v biologickém prostředí).

Anionické liposomy jsou díky svému náboji rychle vychytávány cílovými buňkami z oběhu a relativně snadno v něm svůj obsah uvolňují. Mezi fosfolipidy s negativním nábojem patří fosfatidylserin, fosfatidylinositol a fosfatidylglycerol [26].

Kationické liposomy patří mezi nejpoužívanější transportní systémy v oblasti genové transfekce. V molekulách lipidů obsahují kvartérní amoniouvu bázi, která je za fyziologického pH protonovaná [22]. Zástupcem je například ethylfosfocholin [26].

Neutrální liposomy jsou kvůli absenci náboje náchylné k agregaci a následné sedimentaci. Patří mezi ně fosfatidylcholin, sfingomyelin a fosfatidylethanolamin[26].

Tab. 2: Klasifikace liposomů na základě jejich struktury (převzato a upraveno z [24]).

Typ vezikuly	Zkratka	Průměr	Počet lamel
Unilamelární	UV	20-1000 nm	1
Malá	SUV	20-100 nm	1
Střední	MUV	Více než 100 nm	1
Velká	LUV	Více než 100 nm	1
Obrovská	GUV	Více než 1 μm	1
Oligolamelární	OLV	0,1-1,0 μm	5
Multilamelární	MLV	Více než 0,5 μm	5-25

Aplikace liposomů

Při vývoji nových léků či lékových forem se klade důraz především na zvýšení terapeutického indexu a minimalizaci nežádoucích účinků. Zkouší se mnoho alternativních postupů k prostému podání léku, jedním z nich je i dodávání léčiv pomocí liposomů. Ideální nosiče aktivních látek v lidském organismu z nich činí především unikátní vlastnosti plynoucí z jejich struktury [25, 23].

Lipidová dvouvrstva nepropouští ionty a velké dipóly, jako jsou například sacharidy a proteiny. Látky inkorporované do liposomu jsou tak chráněny před působením okolního prostředí hostitelského organismu, například před enzymy. Amfipatický charakter struktury umožňuje zabudování hydrofilních i hydrofobních látek do liposomů (např. amfotericin B – antifungální látka či doxorubicin – antracyklinové antibiotikum využívané v protinádorové terapii) [26].

V neposlední řadě jsou to také biokompatibilita a biodegradabilita, které jsou dány jejich složením[23].

Kromě konvenčních liposomů existuje i jejich druhá generace, která obsahuje nové, modifikované liposomy se specializovanými vlastnostmi. Konvenční liposomy jsou lipidové vezikuly složené z nejrůznějších fosfolipidů a glykolipidů, přirozených membránových i syntetických. Přes slibné začátky v 70. letech minulého století se ukázalo, že konvenční liposomy s sebou nesou několik problémů v *in vivo* pokusech. Patří mezi ně malá stabilita (reagují i na malé změny pH, teploty či koncentrace solí), rychlá vychytávání z krevního oběhu [22] a interakce s HDL a LDL lipoproteiny plasmy, které vedou k rychlému uvolnění přenášené látky do krve [25]. Vzhledem ke složení liposomů je tělo nerozpoznává jako sobě cizí. Kritickou úlohu ve vychytávání liposomů z krve hraje opsonizace plasmatickými proteiny, které na sebe liposomy adsorbují po aplikaci do krevního oběhu. Jako opsoniny mohou působit látky jak imunitní (komplement, CRP), tak neimunitní povahy (ligandy, které navádí liposomy k makrofágovému systému či hepatocytům, kde s nimi pak reagují pomocí ligand-receptorové interakce)[28].

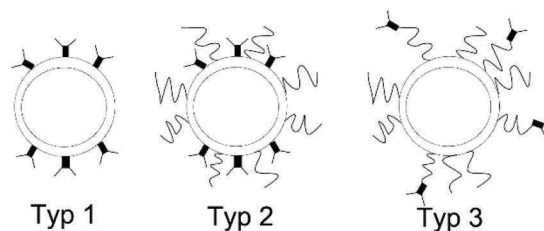
Po opsonizaci již tělo liposomy rozeznává a jsou vychytávány monocyto-makrofágovým systémem (fagocytující buňky v krevním oběhu, slezině, játrech a lymfatické tkáni), kde jsou degradovány[22, 28]. Tohoto faktu se využívá v případě, kdy je potřeba do monocyto-makrofágového systému doručit lék, tedy v případě nemocí tento systém postihujících. Mezi taková onemocnění patří parazitární nákazy (například leishmanióza) a některé houbové infekce (redukce nežádoucích účinků amfotericinu B). Na druhou stranu je skutečnost, že jsou vychytávány makrofágy, jedním z hlavních důvodů, proč konvenční liposomy nelze využít jako systémy pro řízené dodávání léčiv v případě, že jejich cílová tkáň leží mimo monocyto-makrofágový systém[22].

Ačkoli se přidáváním cholesterolu a fosfolipidů s mastnými kyselinami s dlouhými, nasycenými řetězci zvyšuje stabilita a poločas rozpadu konvenčních liposomů, stále je potřeba dostatečně zabránit jejich opsonizaci a následnému vychytání monocyto-makrofágovým systémem [25]. Jednou z metod, které zvyšují biologickou stabilizaci, je sterická stabilizace liposomů pomocí syntetických

polymerů (PEG). Vznikají tak PEGylované, *stealth* (skryté) liposomy [22], které mají prodloužený poločas rozpadu v krevním oběhu. Říká se jim dlouho-cirkulující liposomy. Tím, že se dostatečně prodlouží jejich cirkulace, mohou se PEGylované liposomy pasivně hromadit ve tkáních a orgánech (pasivní cílení). Za normálních podmínek je endotel cév nepoškozený a k extravazaci dochází pouze výjimečně, ale například nedokonalá angiogeneze tumorů umožňuje únik liposomů do intersticia. V něm se z důvodu špatné lymfatické drenáže hromadí a uvolňují inkorporované látky[25].

Nejpoužívanější metodou specifického cílení léčiv do antigenem specifikované tkáně je navázání imunoglobulinu (nejčastěji třídy IgG) na nosič. Dle způsobu navázání a vzájemného vztahu protilátky, PEG a liposomu rozlišujeme tři typy imunoliposomů[29] (Obr. 5).

Typ 1 není opláštěný PEG a na svém povrchu má kovalentně navázanou protilátku, typ 2 je opláštěný PEG a protilátky má ukotveny na povrch fosfolipidů a typ 3, který je opláštěný PEG, na jehož konce jsou navázány molekuly protilátek. Tento liposom se jinak nazývá také pedantní[29].



Obr. 5: Typy imunoliposomů (převzato a upraveno z [29]).

Aby se snížila imunitní odpověď organismu a tím i vychytávání imunoliposomů monocyto-makrofágovým systémem, značí se liposom pouze Fab-fragmentem molekuly protilátky[29]. V neposlední řadě se kationické liposomy (liposomy s kladným povrchovým nábojem) používají v genovém inženýrství při transfekci – přenosu genetického materiálu do buněčného jádra a jeho exprese [30].

Příprava liposomů

Liposomy jsou nejčastěji připravovány metodou hydratace lipidového filmu. Nejprve samovolně vzniká fosfolipidová membrána, která se posléze jako důsledek hydrofobních interakcí sbaluje do vezikul. Vhodnou fosfolipidovou kompozicí lze ovlivnit velikost a strukturu liposomu, stejně jako jeho stabilitu. Obecně lze postup shrnout do tří etap:

- Příprava lipidového filmu
- Vznik liposomů
- Finální úpravy (velikosti, struktury, stability liposomů)

Hlavní složkou liposomů je lecitin (fosfatidylcholin), který se používá buď přírodní (sójové boby, vaječný žloutek) nebo syntetický[31].

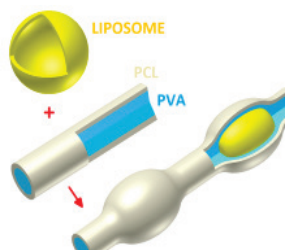
Ve zkumavce se rozpustí fosfolipid v chloroformu, případně ve směsi chloroformu a methanolu. Organické rozpouštědlo je pomocí dusíku odpařeno za stále rotace, dokud nevznikne na stěnách zkumavky tenký lipidový film. Film je následně hydratován vodnou fází (TBS, pH 7,4) a třepáním převeden na heterogenní suspenzi multilamelárních vezikul, které mají v sobě enkapsulovaný vodný obsah. Po třepání získáme suspenzi multilamelárních vezikul. Požadované velikosti a unilamelarity dosáhneme extruzí přes polykarbonátový membránový filtr, který má přesně definovanou velikost pórů. S rostoucí velikostí pórů klesá homogenita výsledné suspenze[31].

Vlastnosti výsledné suspenze závisí na kompozici lipidů, vodné fázi, velikosti pórů membrány a také na počtu opakování extruze. Při několikanásobné extruzi dochází ke ztrátě lamel a vznikají mono- či oligolamelární liposomy (s počtem vrstev do přibližně 5)[31].

Inkorporace liposomů do nanovláknenných nosičů

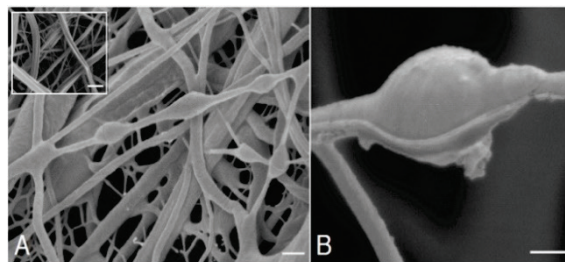
Nanovláknna jsou ideálním nosičem ve tkáňovém inženýrství díky svým jedinečným vlastnostem. Mají velký poměr povrchu a objemu, kontrolovatelnou porézní strukturu a 3D mikroarchitekturu [33].Lze jimi však nejen napodobovat unikátní strukturu extracelulární matrix, ale je možné je i připravit jako nosiče bioaktivních látek s řízeným uvolňováním, které navozují požadovanou buněčnou či tkáňovou odpověď [34].Je to neinfekční, lehký připravitelný materiál, který lze přizpůsobit konkrétním požadavkům.

Funkcionalizace „scaffoldu“ je možná adsorpcí bioaktivních látek na již připravený nanovláknenný nosič nebo enkapsulací látek v průběhu procesu přípravy nanovláken elektrostatickým zvlákněním směsí polymeru a bioaktivní látky [35].Proteiny (bioaktivní látky) ovšem zůstávají v roztoku polymeru, což není jejich přirozené prostředí a jejich aktivita tím může být ovlivněna. Tento problém je možné vyřešit jejich enkapsulací do liposomů (Obr. 6).



Obr. 6: Liposomy inkorporované do nanovláken (převzato z [36] se svolením autora).

Nejvhodnější metodou pro přípravu protein-kompatibilních nanovláken je metoda koaxiálního electrospinningu (Obr. 7).



Obr. 7: Liposomy enkapsulované do PCL/PVA nanovláken pomocí koaxiálního electrospinningu (převzato z [36] se svolením autora).

Závěr

Funkcionalizovaná nanovláknna se jeví jako optimální složka kompozitních nosičů. Lze předpokládat, že naleznou široké uplatnění v rámci regenerativní medicíny. Řada experimentů jasně prokazuje jejich potenciál jako systému řízeného uvolňování bioaktivních látek. Jejich značný, navíc modifikovatelný povrch pak umožňuje selektivní buněčnou adhezi. Spolu s řízeným uvolněním látek enkapsulovaných do liposomů lze pak sestavit systém s kontrolovaným gradientem bioaktivních látek a zajistit tak chemotaxi. Tyto vlastnosti jsou zásadní pro nejmodernější přístupy regenerativní medicíny, které se soustřeďují na bezbuněčné nosiče a aktivaci endogenních buněčných zdrojů. Je zřejmé, že tento přístup má nejen nejbližší do humánní medicíny (je založen především na aplikaci zdravotnických prostředků, nikoliv léčiv), ale je pravděpodobně i finančně nejméně náročný. Rozvoji tohoto směru tkáňového inženýrství a regenerativní medicíny je proto třeba nadále věnovat nejvyšší pozornost.

Poděkování

Práce byla podpořena výzkumným grantem č. NT12156, Ministerstvo zdravotnictví ČR, výzkumným projektem MŠMT ESF Projekt CZ.1.07/2.3.00/20.0092 BOX FBMI ČVUT a výzkumnými granty Grantové agentury Univerzity Karlovy č. 270513, 545313 a 424213.

Literatura

- [1] Strebhardt, Klaus a Ullrich, Axel. *Paul Ehrlich's Magic Bullet Concept: 100 Years of Progress*. Nature Reviews Cancer. 2008, Sv. VIII, 6, stránky 473-480.
- [2] Barenholz, Yechezkel. *Targeted Nanodrugs: the Drugs of the 21st Century?* Tel Aviv University. [Online] 9-11. únor

2010. [Citace: 14. květen 2011.]
www.youtube.com/watch?v=7pvQxL2UnKY.
- [3] Schroeder, Avi, Kost, Joseph a Barenholz, Yechezkel. *Ultrasound, Liposomes and Drug Delivery: Principles for Using Ultrasound to Control the Release of Drugs from Liposomes*. Chemistry and Physics of Lipids. 2009, 162, stránky 1-16.
- [4] Calvagno, Maria Grazia, a další, a další. *Effects of Lipid Composition and Preparation Conditions on Physical-Chemical Properties, Technological Parameters and In Vitro Biological Activity of Gemcitabine-Loaded Liposomes*. Current Drug Delivery. 2007, 4, stránky 89-101.
- [5] Murray, Robert K a kolektiv. *Harper's Illustrated Biochemistry*. Lange Medical Publications, 2003. ISBN 0-07-138901-6.
- [6] Alberts, Bruce a kolektiv. *Molecular Biology of The Cell Fifth Edition*. New York City : Garland Science, 2008. ISBN 978-0-8153-4105-5.
- [7] Hampl, František. Ústav organické chemie a biochemie AV ČR, v.v.i. *Biomimetika - organizované vrstvy, liposomy*. [Online] [Citace: 3. duben 2011.] www.uochb.cas.cz/Zpravy/PostGrad2005/6_Hampl.pdf.
- [8] Király, Zoltán. University of Szeged, Department of Colloid Chemistry. *Colloid Stability*. [Online] [Citace: 1. duben 2011.] koll1.chem.u-szeged.hu/colloids/staff/zoli/Pharmacy/Lecture%209.pdf.
- [9] Balazs, Daniel a Godbey, WT. *Liposomes for Use in Gene Delivery*. Journal of Drug Delivery. Hindawi Publishing Corporation, 2011, str. 12.
- [10] Vosolsobě, Stanislav. *Fluidita plasmatické membrány a lipidové rafty u rostlin*. [Bakalářská práce]. Praha : Univerzita Karlova, Přírodovědecká fakulta, 2008. str. 40.
- [11] Škopová, Jitka. *Transportní systémy využívané v kosmetických přípravcích*. [Bakalářská práce]. Brno : Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2008. str. 39.
- [12] Wabel, Christoph. *Influence of Lecithin on Structure and Stability of Parenteral Fat Emulsions*. [Disertační práce]. Erlangen-Nürnberg: Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg, Naturwissenschaftliche Fakultät, 1998.
- [13] Brown, G. H.; Wolker, J. J. "Liquid Crystals and Biological Structures", Academic Press, London, 1979.
- [14] Gennis, R. B. "Biomembranes: Molecular Structure and Function", Springer Verlag, Heidelberg, 1989.
- [15] Marsh, D. "Handbook of Lipid Bilayers", CRC Press, 1990.
- [16] Bergstrand, Nill. *Liposomes for Drug Delivery*. [Disertační práce]. Uppsala : Uppsala University, Faculty of Science and Technology, 2003. str. 71. ISBN 91-554-5592-1.
- [17] Kодиček, Milan. *Biochemické pojmy (výkladový slovník)*. [Online] VŠCHT, 2007. [Citace: 27. březen 2011.] vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid_es-002/. ISBN 978-80-7080-669-2.
- [18] Malvern instruments Ltd. User Manual (Zetasizer). 2003.
- [19] Automated Protein Characterization With the MPT-2 Autotitrator. *Pharmaceutical Online*. [Online] 27. července 2005. [Citace: 23. duben 2011.] http://www.pharmaceuticalonline.com/article.mvc/Automated-Protein-Characterization-With-The-M-0002.
- [20] Johnsson, Markus. *Sterically Stabilised Liposomes and Related Lipid Aggregates*. [Disertační práce]. Uppsala : Uppsala University, Faculty of Science and Technology, 2001. str. 69. ISBN 91-554-5027-X.
- [21] Bartovská, Lidmila a Šišková, Marie. *Fyzikální chemie povrchů a koloidních soustav*. Praha : VŠCHT, 2005. ISBN 80-7080-579-X.
- [22] Wang, Binghe, Siahaan, Teruna a Soltero, Richard. *Drug Delivery: Principles and Applications*. Hoboken, New Jersey : John Wiley & Sons, Inc., 2005. ISBN 0-471-47489-4.
- [23] Amler, Evžen. Technická univerzita v Liberci - Fakulta textilní. *Nové trendy v regenerativní medicíně*. [Online] 2010. [Citace: 9. duben 2011.] www.ft.tul.cz/studenti/seminar_doktorandu/seminare_2010-2011/amler_regenerativni_medicina-2010.pdf.
- [24] Sultana, Abdus Samad Y a Aqil, M. *Liposomal Drug Delivery Systems: An Update Review*. Current Drug Delivery. 2007, 4, stránky 297-305.
- [25] Immordino, Maria Laura, Dosio, Franco a Cattel, Luigi. *Stealth Liposomes: Review of the Basic Science, Rationale and Clinical Applications, Existing and Potential*. International Journal of Nanomedicine. 2006, Sv. 1, 3, stránky 297-315.
- [26] Míčková, Andrea a Buzgo, Matěj. *Nanotechnologie v biomedicíně*. [Prezentace]. Praha : Univerzita Karlova, 2. lékařská fakulta, 2011.
- [27] Bei, Di, Meng, Jianing a Youan, Bi-Botti C. *Engineering Nanomedicines for Improved Melanoma Therapy: Progress and Promises*. Nanomedicine. 2010, Sv. 5, 9, stránky 1385-1399.
- [28] Yan, Xuedong, Scherphof, Gerrit L a Kamps, Jan A. A. M. *Liposome Opsonization*. Journal of Liposome Research. 2005, 15, stránky 109-139.
- [29] Greplová, Jarmila. *Využití imunoliposomů pro transport a řízené uvolňování léčiv*. [Bakalářská práce]. Praha: Univerzita Karlova, Přírodovědecká fakulta, 2009. str. 30.
- [30] Škrabalová, Michaela. *Kationické liposomy pro transfekci buněk*. [Diplomová práce]. Brno : Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta, 2007. str. 102.
- [31] Korvasová, Zina. *Příprava liposomů s antivirálním účinkem*. [Diplomová práce]. Brno : Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta, 2006. str. 77.
- [32] Avanti Polar Lipids, Inc. *Avanti Polar Lipids - Extrusion*. [Online] [Citace: 8. květen 2011.] http://www.avantilipids.com/index.php?option=com_content&view=article&id=533&Itemid=297.
- [33] Chew, S Y a další. *The Role of Electrospinning in the Emerging Field of Nanomedicine*. Current Pharmaceutical Desing. 2006, 12, stránky 4751-70.
- [34] Ashammakhi, N a další. *Nanofiber-based scaffolds for tissue engineering*. European Journal of Plastic Surgery. 2012, 35, stránky 135-149.
- [35] Meinel, Anne a další. *Electrospun matrices for localized drug delivery: Current technologies and selected biomedical applications*. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics. 2012, 81, stránky 1-13.
- [36] Mickova, Andrea a další. *Core/Shell Nanofibers with Embedded Liposomes as a Drug Delivery System*. Biomacromolecules. 2012, 13, stránky 952-962.

Karolína Vocetková

Ústav biofyziky, 2. lékařská fakulta UK v Praze
Česká republika

E-mail: karolina_vocetkova@labdemo.cz

Telefon: +420 777 598 815